



University of Groningen

B cell lineages in the rat

Boer, Nynke Klazes de

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1994

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Boer, N. K. D. (1994). B cell lineages in the rat. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Inleiding

Een belangrijke functie van het afweersysteem is het beschermen van het lichaam tegen bacteriën, virussen en schimmels. In eerste instantie wordt het binnendringen van micro-organismen voorkomen door de huid en de slijmvliezen. Bovendien zijn er cellen, macrofagen, welke op niet specifieke wijze binnengedrongen micro-organismen kunnen opnemen en afbreken. In die gevallen dat dit echter niet afdoende is komt het specifieke afweersysteem in actie. Binnen dit specifieke afweersysteem speelt een bepaald type cellen, de lymfocyten, een sleutelrol. Lymfocyten hebben een receptor op hun celmembraan, waarmee zij specifiek een onderdeel van een micro-organisme, het zogeheten antigeen, kunnen herkennen. Na herkenning van het antigeen zullen zij hier op reageren, wat uiteindelijk leidt tot eliminatie van het micro-organisme. Er zijn twee typen lymfocyten, T- en B lymfocyten. In dit proefschrift worden B lymfocyten bestudeerd.

Wat zijn B lymfocyten?

De belangrijkste taak van de B lymfocyten (of B cellen) is de productie van specifieke antistoffen (antilichamen). Na herkenning van een antigeen kan een B lymfocyt gaan delen en zich ontwikkelen tot een antilichaam producerende cel. Na binding van antilichamen aan een antigeen kan het geheel door macrofagen worden opgeruimd.

Tijdens een B cel afweer reactie (immuun respons) kunnen naast de antilichaam producerende cellen bovendien specifiek tegen het antigeen gerichte 'geheugen' (Engels: memory) cellen worden gevormd. Deze memory cellen blijven in het lichaam circuleren en zullen na een hernieuwd contact met het antigen, bijvoorbeeld na een tweede infectie met dezelfde bacterie, efficiënter (sneller en met beter passende antilichamen) op het antigen kunnen reageren.

B cel repertoire

De herkenning van een antigeen door een lymfocyt is een zeer specifiek proces. Elke B lymfocyt kan één unieke type antilichaam maken en draagt dit antilichaam als antigeen receptor op de celmembraan. Met dit antilichaam kan de cel zeer specifiek één (of in een enkel geval een aantal gerelateerde) unieke antigen(en) herkennen. Aangezien elk willekeurig binnendringend micro-organisme door het lichaam herkend moet kunnen worden, moet het lichaam steeds zorgen voor de aanwezigheid van een 'pool' van B lymfocyten met een groot aantal verschillende specificiteiten (B lymfocyten repertoire). Dit repertoire moet zo goed mogelijk gericht zijn tegen alle mogelijke antigenen, maar mag aan de andere kant geen B lymfocyten bevatten die gericht zijn tegen zelf-antigenen (bv. eiwitten van het eigen lichaam). Over de regulatie van de samenstelling van de pool van B lymfocyten (en dus het B cel repertoire) is nog veel onduidelijk.

Als geheel is de B cel 'pool' relatief stabiel, maar er verdwijnen steeds cellen om deel te nemen aan immuunresponsen en er gaan cellen dood, waarbij deze cellen vervangen worden door nieuw gevormde cellen met nieuwe specificiteiten. Er worden echter veel meer nieuwe cellen gemaakt dan nodig zijn en slechts een aantal van hen zal worden geselecteerd om tot de B cel pool te gaan behoren. Deze processen zorgen voor optimalisering en flexibiliteit van het B cel repertoire. Nieuwe B lymfocyten worden met name gemaakt in het beenmerg. Er is echter mogelijk ook beenmerg onafhankelijke B lymfocyten productie van zogeheten B-1 cellen.

B-1 cellen in de rat ?

B lymfocyten behorende tot een (relatief) beenmerg-onafhankelijke B cellijn kunnen op hun eigen wijze tot het B lymfocyten repertoire bijdragen. Het bestaan van zo'n B cellijn is aangetoond in de muis. In deze knaagdiersoort zijn zogenaamde B-1 cellen aanwezig, welke zich al voor de geboorte afsplitsen van de overige B cellen (welke in dit verband ook wel worden aangeduid als conventionele B cellen). Deze B-1 cellen vormen in de volwassen muis een aparte B cellijn met een gefixeerd repertoire, welke al is gevormd rond de geboorte. De idee is dat bij de muis de B-1 cellen de eerste afweer vormen tegen veel voorkomende antigenen. Conventionele B lymfocyten daarentegen, vormen een meer geavanceerde en flexibele afweer en produceren specifieke antilichamen wanneer de response van de B-1 cellen onvoldoende is. Alhoewel volgens deze theorie de B-1 cellen bij de muis een essentiële functie uitoefenen, is het nog de vraag in hoeverre B-1 cellen aanwezig zijn in alle species.

Zoals duidelijk mag zijn uit het voorgaande hebben B-1 cellen eigenschappen, waarin ze verschillen van de conventionele B lymfocyten; bv. ze worden bij de volwassen muis niet in het beenmerg gemaakt en bezitten een ander repertoire. Bovendien onderscheiden zij zich op nog tal van andere punten, zoals de aanwezigheid van andere eiwitten op hun celmembraan en een ander lokalisatie patroon. Aan de hand van deze unieke eigenschappen van muize B-1 cellen werd de mogelijke aanwezigheid van B-1 cellen bij de rat onderzocht.

In hoofdstuk 2 wordt een lymfoid orgaan beschreven, gelegen in het eerste deel van de dikke darm ('proximal colonic lymphoid tissue'), dat een productieplaats zou kunnen zijn van (de beenmerg onafhankelijke) B-1 cellen. Uit deze studie bleek echter dat de samenstelling van de B lymfocyten en hun organisatie in dit orgaan niet verschilde van andere lymfoide organen (bv. milt, lymfeklier en platen van Peyer).

Vervolgens is onderzocht of er bij de rat B lymfocyten aanwezig zijn met dezelfde oppervlakte eiwitten als de muize B-1 cellen (hoofdstuk 3). Heel typerend voor B-1 lymfocyten in de muis is dat zij een kleine hoeveelheid van het oppervlakte eiwit CD5 op hun membraan hebben, terwijl dit bij de conventionele cellen niet het geval is. Onderzoek bij de rat liet echter zien dat in dit species *alle* B lymfocyten een zeer kleine hoeveelheid CD5 op hun celmembraan hebben.

Tenslotte, is onderzocht of de rat B lymfocyten bezit, welke functioneel gelijk zijn aan de muize B-1 cellen. Cellen met een specificiteit voor met bromelaine behandelde erythrocyten

(BrMRBC) zijn bij de muis zo goed als allemaal B-1 cellen. In hoofdstuk 4 wordt aangetoond dat ook in de rat BrMRBC specifieke B lymfocyten aanwezig zijn. Bovendien wordt aangetoond dat deze cellen in een volwassen rat waarschijnlijk niet in het beenmerg worden geproduceerd. Uit dit onderzoek wordt geconcludeerd dat de BrMRBC specifieke B cellen waarschijnlijk het ratte equivalent van muize B-1 cellen vormen. Echter een bewijs hiervoor kan pas worden geleverd indien is aangetoond dat BrMRBC specifieke cellen vroeg in de ontwikkeling andere voorloper cellen hebben dan de overige B lymfocyten.

Een model voor de perifere B lymfocyten ontwikkeling

In het beenmerg worden elke dag grote aantallen nieuwe B lymfocyten gemaakt. Stamcellen produceren pre-B cellen welke differentiëren tot onrijpe B cellen. Deze onrijpe, nieuw gevormde B lymfocyten verlaten het beenmerg via het bloed. De productie van nieuwe B lymfocyten in het beenmerg is echter veel groter dan het aantal cellen dat nodig is in de periferie. Slechts een deel van de nieuwe B lymfocyten wordt geselecteerd om te gaan behoren tot de perifere 'pool' van B lymfocyten. Hoe dit selectie-proces, dat uitermate belangrijk is voor de vorming van het B cel repertoire, plaatsvindt is echter niet bekend. Om dit selectie-proces te kunnen bestuderen moeten nieuw gevormde B lymfocyten onomstotelijk kunnen worden onderscheiden van de overige B cellen in de periferie.

In hoofdstuk 5 hebben wordt een uitvoerige analyse gemaakt van de eiwitten welke op de membraan voorkomen van de B lymfocyten in de lymfoïde organen van de rat. Er wordt aangetoond dat nieuw gevormde B lymfocyten Thy-1 op hun membraan hebben, terwijl rijpe B lymfocyten Thy-1 negatief zijn. Bovendien is uit onze analyses gebleken dat er twee subsets onrijpe B lymfocyten bestaan, welke zijn te onderscheiden op grond van andere membraan eiwitten dan Thy-1, hun lokalisatie patroon en de mogelijkheid om te kunnen recirculeren. Nader onderzoek van de verschillende B cel subsets maakt aannemelijk dat zij stapsgewijs uit elkaar ontstaan (figuur 1). In het kort: uit pre-B cellen ontstaan Thy-1⁺ nieuwe gevormde B cellen (NF-B cells), welke vervolgens differentiëren tot Thy-1⁺ recirculerende B cellen (ERF-B cellen). Deze ontwikkelen zich vervolgens tot Thy-1⁻ recirculerende cellen (RF-B cellen). De plaats van de laatste B cel subset welke we kunnen onderscheiden, de marginale zone B cellen (MZ-B cellen) in ons B cel schema, bleef echter nog onduidelijk. De positie van deze cellen hebben we nader onderzocht in hoofdstuk 6. Uit dit onderzoek bleek dat deze cellen hoogstwaarschijnlijk ontstaan uit RF-B cellen. Aan de hand van dit B cel schema kan worden onderzocht, welke stappen in het differentiatie proces gepaard gaan met een selectie proces.

Concluderend, er zijn geen bewijzen voor het bestaan van verschillende B cellijnen in de rat. Gebaseerd op de gegevens in dit proefschrift is het volgende sequentiële B cel differentiatie schema opgesteld: pre-B cellen → NF-B cellen → ERF-B cellen → RF-B cellen → MZ-B cellen (zie pag. 118). Aan de hand van hun unieke combinatie van membraan markers kunnen de B cel subpopulaties worden geïsoleerd en kunnen studies worden verricht die inzicht zullen geven in de selectie processen die ten grondslag liggen aan de vorming van het B cel repertoire.